

ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής : Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Διευθυντής: Καθηγητής ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΒΑΜΒΑΚΟΠΟΥΛΟΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

Διευθυντής ΠΜΣ: Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

(Επιλογή μεθόδου γονιμοποίησης στην υποβοηθούμενη
αναπαραγωγή)

ANNA ΑΓΓΟΥΜΗ

ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης

ΛΑΡΙΣΑ

Οκτώβριος 2018

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής:

1^{ος} Εξεταστής **Κωνσταντίνος Νταφόπουλος**
(Επιβλέπων) Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου
 Θεσσαλίας

2^{ος} Εξεταστής **Μαρία Σάτρα**
 ΕΔΙΠ Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

3^{ος} Εξεταστής **Ουρανία Μαρκανδώνα**
 Εμβρυολόγος, Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία αποτελεί την διπλωματική μου εργασία για το πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών «Βιολογία της Αναπαραγωγής» του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου Κωνσταντίνο Νταφόπουλο που με βοήθησε, με καθοδήγησε και μου αφιέρωσε αρκετό από τον πολύτιμο χρόνο του.

Θα πρέπει να ευχαριστήσω και τα μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής Μαρία Σάτρα ΕΔΙΠ Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και Ουρανία Μαρκανδώνα Εμβρυολόγος, Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την επιστημονική τους συμβουλή στην εκπόνηση αυτής της εργασίας.

Επιπροσθέτως θα πρέπει να ευχαριστήσω από καρδιάς τον οικογενειακό μου περίγυρο για την υποστήριξη που μου προσέφεραν απλόχερα καθ' όλη τη διάρκεια του πονήματός μου. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στην συμφοιτήτριά μου και συνεργάτιδά στην δουλειά Έλλη Καστρίκα που περάσαμε μαζί όλες τις δυσκολίες για να καταφέρουμε να πάρουμε το μεταπτυχιακό μας.

Τέλος ιδιαιτέρως πρέπει να ευχαριστήσω τον σύζυγό μου Θάνο και την μονάκριβη κόρη μου Βασιλική, για όλες τις ώρες που έλειπα από κοντά τους.

Άννα Αγγούμη

Αφιερωμένη στην Βασιλική μου...

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

Είμαι απόφοιτος της Σχολής Ιατρικών Εργαστηριών του ΤΕΙ Θεσσαλίας. Έχω πολυετή εμπειρία στο χώρο της υγείας. Τα τελευταία χρόνια είμαι μέλος της ομάδας του μαιευτήρα –γυναικολόγου Γεώργιου Καλόγηρου.

Ο κλάδος που με έχει κερδίσει είναι αυτός την ενασχόλησης με την μητρότητα. Γι αυτό το λόγο εξειδικεύομαι σαν βοηθός μητρότητας και είμαι υποψία IBLCE. Στόχος της επαγγελματικής μου εξέλιξης η συνεχής επιμόρφωση και η έρευνα.

**«ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΤΗΝ
ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ»**

ANNA ΑΓΓΟΥΜΗ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, 2018

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- Επιβλέπων:** **Κωνσταντίνος Νταφόπουλος**
Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας
- Σύμβουλος :** **Μαρία Σάτρα**
ΕΔΙΠ Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- Μέλος :** **Ουρανία Μαρκανδώνα**
Εμβρυολόγος, Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Περίληψη

Η εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF, in vitro Fertilization) είναι η πιο συνηθισμένη μέθοδος Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής στην σημερινή εποχή. Εφαρμόστηκε για πρώτη φορά με επιτυχία στον άνθρωπο το 1978 με την με τη γέννηση της Louise Brown. Το πρώτο παιδί στον κόσμο μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση και εμβρυομεταφορά, έμεινε στην ιστορία γνωστό ως «test-tube baby» (το παιδί του σωλήνα).

Για πολλά ζευγάρια με προβλήματα γονιμότητας, η εξωσωματική αποτελεί την καλύτερη επιλογή για την επίτευξη εγκυμοσύνης. Η εφαρμογή της μεθόδου μπορεί να αντιμετωπίσει διάφορα αίτια υπογονιμότητας. Κατά τη διαδικασία, τα ωάρια γονιμοποιούνται από τα σπερματοζωάρια στο περιβάλλον του εργαστηρίου. Η γονιμοποίηση μπορεί να επιτευχθεί είτε με τη διαδικασία της κλασικής εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) είτε με τη μέθοδο της μικρογονιμοποίησης (intra-cytoplasmic sperm injection - ICSI). Το βασικό μέρος της εργασίας αυτής είναι να συγκρίνει τις δυο μεθόδους. Στόχος να βγάλουμε τεκμηριωμένα συμπεράσματα σχετικά με την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της κάθε μεθόδου.

Αναρωτηθήκαμε: Ποια από τις δύο μεθόδους μας δίνει υψηλότερα αποτελέσματα κυήσεων; Θα πρέπει να χρησιμοποιείτε μονό η ICSI στις πτωχές απαντήτριες;

Αυτά τα ερωτήματα και αλλά πολλά θα προσπαθήσουμε να απαντήσουμε στις σελίδες αυτής της εργασίας, βάση των τελευταίων οδηγιών των μεγαλύτερων διεθνών οργανισμών, που ασχολούνται με τον κλάδο της Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής.

Summary

In vitro fertilization (IVF) is the most common method of Medical Assisted Reproduction in today's age. It was first applied successfully to humans in 1978 with the birth of Louise Brown. The first child in the world after IVF and embryo transfer, has been known as "test tube baby".

For many couples with fertility problems, extracorporeal is the best option for achieving pregnancy. The application of the method can cope with various causes of infertility. In the process, the eggs are fertilized by the sperm in the laboratory environment. Fertilization can be accomplished either through IVF or intracytoplasmic sperm injection (ICSI). The main part of this work is to compare the two methods. We aim to make informed conclusions about the safety and effectiveness of each method.

We wondered: Which of the two methods gives us higher pregnancy outcomes? Should you use ICSI only to poor responders? These questions and much more, we will try to answer the pages of this paper, based on the latest guidelines of the major international organizations dealing with the Medical Assisted Reproduction industry.

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1	2
1.1 Υποβοηθούμενη αναπαραγωγή	2
1.2 Μέθοδοι Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής (<i>Assisted Reproductive Techniques/ART</i>)	2
Κεφάλαιο 2	8
2.1 Τεχνική της εξωσωματικής γονιμοποίησης (<i>in vitro fertilization/IVF</i>)	8
2.2 Ιστορική Αναδρομή	8
2.3 Διαδικασία της εξωσωματικής γονιμοποίησης (<i>IVF</i>)	9
Κεφάλαιο 3	14
3.1 Ορισμός της μικρογονιμοποίησης (<i>ICSI</i>)	14
3.2 Ιστορική Αναδρομή.	14
3.3 Διαδικασία της μικρογονιμοποίησης.	15
Κεφάλαιο 4	17
4.1 Ενδείξεις επιλογής για <i>IVF</i>	17
4.2 Ενδείξεις επιλογής για <i>ICSI</i>	18
4.3 Σύγκριση των δύο μεθόδων	19
Σύνοψη	31
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	32

1.1 Υποβοηθούμενη αναπαραγωγή

Η υπογονιμότητα αποτελεί ένα σοβαρό πρόβλημα για τα σύγχρονα ζευγάρια. Ένα στα 7 ζευγάρια σήμερα δεν θα καταφέρει να αποκτήσει παιδί μετά από ένα χρόνο τακτικών επαφών. Μετά την κατάλληλη διερεύνηση πολλά ζευγάρια καταφεύγουν τελικά σε ιατρικώς υποβοηθούμενες μεθόδους σύλληψης. Με τον όρο υποβοηθούμενη αναπαραγωγή εννοούμε όλες εκείνες τις μεθόδους που στόχο έχουν την επίτευξη σύλληψης μετά από ιατρική παρέμβαση. ^[4,12,27]

1.2 Μέθοδοι Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής (Assisted Reproductive Techniques/ ART)

Έχουν αναπτυχθεί και εφαρμόζονται μια μεγάλη ποικιλία από μεθόδους και τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής τις οποίες διαχωρίζουμε ανάλογα με το επίπεδο παρέμβασης που υιοθετείται. Μπορούμε να τις ξεχωρίσουμε σε 3 μεγάλες κατηγορίες:

- Την απλή παρακολούθηση ωοθυλακιορρηξίας σε συνδυασμό με προγραμματισμένη σεξουαλική επαφή.
- Την πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας με χρήση φαρμάκων με ή χωρίς ενδομήτριο σπερματέγχυση.
- Την εφαρμογή μεθόδων εξωσωματικής γονιμοποίησης.

➤ Ενδομήτριο Σπερματέγχυση (IUI)

Αποτελεί μια παρεμβατική μέθοδο στην οποία πραγματοποιείται τοποθέτηση του επεξεργασμένου σπέρματος μέσα στην μήτρα της γυναίκας. Μπορεί να εφαρμοστεί και σε φυσικό κύκλο της γυναίκας μετά από υπερηχογραφική

παρακολούθηση της ωοθυλακιορρηξίας. Συχνότερα συνδυάζεται με φαρμακευτική πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας και ήπια ωοθηκική διέγερση με σκοπό την αυξημένη παραγωγή ωοθυλακίων (superovulation) και την αύξηση των ποσοστών επιτυχίας της [13,27]

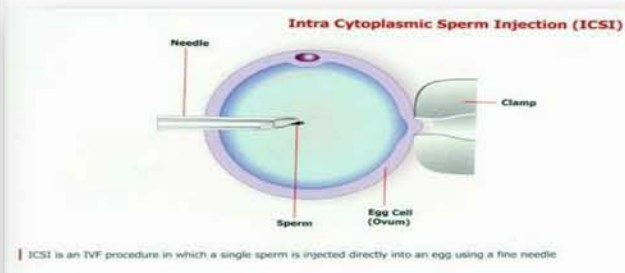
➤ **Εξωσωματική γονιμοποίηση (in vitro fertilization/IVF).**

Πρόκειται για την πιο ευρέως γνωστή τεχνική υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Τα στάδια αυτής της διαδικασίας είναι:

- Η ωοθηκική διέγερση με τη χορήγηση φαρμάκων για σύγχρονη ανάπτυξη πολλών ωοθυλακίων.
- Η ωοληψία.
- Η τοποθέτηση των ωαρίων και των σπερματοζωαρίων σε κατάλληλο καλλιεργητικό μέσο στο εργαστήριο ώστε να επιτευχθεί η γονιμοποίηση.
- Τα γονιμοποιημένα ωάρια επωάζονται σε κατάλληλο καλλιεργητικό υλικό και ελέγχονται επί καθημερινής βάσεως για την εμβρυική τους ανάπτυξη και ποιά από αυτά έχουν εξελιχθεί φυσιολογικά.
- Η μεταφορά την εμφύτευση το κατάλληλα ανεπτυγμένων γονιμοποιημένων ωαρίων για εμφύτευση μέσα στη μήτρα της γυναίκας. [27]

➤ **Μικρογονιμοποίηση (μικρογονιμοποίηση/ ICSI, intracytoplasmic sperm injection).**

Η μικρογονιμοποίηση χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις που η ποιότητα των σπερματοζωαρίων δεν είναι άριστη. Συνήθως πρόκειται για καταστάσεις που το πρόβλημα αφορά την χαμηλή κινητικότητα ή τον περιορισμένο αριθμό των σπερματοζωαρίων. Και σ' αυτή την περίπτωση τα ωάρια συλλέγονται όπως και στην διαδικασία της κλασικής εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF). Κατόπιν, μέσω ειδικού μικροσκοπίου γίνεται μια μικρή οπή στο ωάριο και τοποθετείται μέσα σε αυτό ένα κατάλληλα επεξεργασμένο σπερματοζωάριο, διασφαλίζοντας έτσι μεγαλύτερη πιθανότητα να γονιμοποιηθεί. [27]



Εικόνα 1. Δεξιά: Τεχνική της μικρογονιμοποίησης. (<http://surrogacycenternepal.com/intra-cytoplasmic-sperm-injection-icsi/>) Αριστερά: Η διαδικασία της σπερματέγχυσης. (<http://fertility-point.com>)

➤ Υποβοηθούμενη Εκκόλαψη (Assisted Hatching).

Το έμβρυο στο αρχικό στάδιο της ανάπτυξής του, ως το στάδιο της βλαστοκύστης, περιβάλλεται από την διαφανή ζώνη. Για να εμφυτευθεί θα πρέπει να γίνει ρήξη της διάφανης ζώνης και το πρώιμο έμβρυο να εξέλθει από αυτήν. Αν η διαφανής ζώνη είναι πολύ παχιά ή σκληρή (όπως κάποιες φορές συμβαίνει σε έμβρυα γυναικών με αυξημένη ηλικία), υπάρχει περίπτωση το έμβρυο να μην μπορέσει να εξέλθει από την διάφανη ζώνη με αποτέλεσμα να μην καταφέρει να εμφυτευθεί στα τοιχώματα της μήτρας. Με την τεχνική της Υποβοηθούμενης Εκκόλαψης δημιουργείται μια οπή στην διαφανή ζώνη των εμβρύων αμέσως πριν την εμβρυομεταφορά ώστε να πραγματοποιηθεί η εμφύτευσή τους στην μήτρα. ^[11,13]

➤ Κρυοσυντήρηση εμβρύων / Εμβρυομεταφορά αποψυγθέντων εμβρύων.

Κάποιες φορές είναι προτιμότερο κατά τη διάρκεια ενός κύκλου εξωσωματικής (IVF), τα έμβρυα που θα προκύψουν να μην εμφυτευθούν άμεσα μέσα στη μήτρα. Σε αυτές τις περιπτώσεις είναι δυνατόν να διατηρηθούν με τη διαδικασία της κρυοσυντήρησης σε χαμηλές θερμοκρασίες (-196°C) και να παραμείνουν αναλλοίωτα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Με την συγκεκριμένη διαδικασία, προγραμματίζεται σε επόμενο κύκλο εξωσωματικής η απόψυξη και εμφύτευση ακολούθως στη μήτρα των κρυοσυντηρημένων εμβρύων. Με αυτόν τον τρόπο σχεδιάζεται η

εμβρυομεταφορά των αποψυχθέντων εμβρύων σε μελλοντικό χρόνο, όταν το περιβάλλον του ενδομητρίου είναι πιο ευνοϊκό. ^[28]

➤ **Κρυοσυντήρηση ωαρίων.**

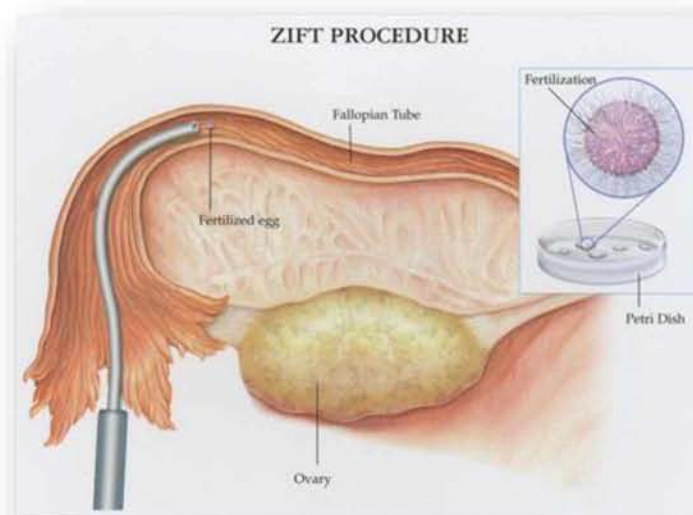
Η διαδικασία λήψης ωαρίων για κρυοσυντήρηση είναι σχετικά πρόσφατη τεχνική. Πρέπει να προηγηθεί διαδικασία διέγερσής των ωοθηκών για την ωρίμανση πολλών ωαρίων όπως συμβαίνει και στην διαδικασία της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Την τεχνική αυτή εφαρμόζεται σε γυναίκες οι οποίες επιθυμούν να διατηρήσουν τη γονιμότητα τους για μελλοντικό χρόνο. Τέτοιες περιπτώσεις είναι η παρουσία κακοήθειας ή η διαφύλαξη της γονιμότητας μελλοντικά για προσωπικούς λόγους. ^[1,20,28]

➤ **Υαλοποίηση.**

Η υαλοποίηση είναι μία νεότερη τεχνική που χρησιμοποιεί εξαιρετικά ταχεία ψύξη μαζί με μία υψηλότερη συγκέντρωση κρυοπροστατευτικών. Χρησιμοποιείται τόσο για την κατάψυξη ωαρίων και εμβρύων δίνοντας πολύ καλύτερα αποτελέσματα διατήρησης για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. ^[20,28]

➤ **Ενδοσαλπγγική μεταφορά γαμετών ή ζygώτη (GIFT, ZIFT: gamete or zygote intra fallopian transfer).**

Όπως και στην εξωσωματική γονιμοποίηση οι διαδικασίες αυτές περιλαμβάνουν την συλλογή ωαρίων από την γυναίκα και ακολούθως την γονιμοποίηση με το σπερματοζώαριο σε εργαστηριακές συνθήκες. Ενώ στην κλασσική εξωσωματική γονιμοποίηση τα έμβρυα παρατηρούνται και μεγαλώνουν σε ένα εργαστήριο για 3 έως 5 ημέρες στην τεχνική GIFT υποβάλλονται λίγες ώρες αργότερα σε λαπαροσκόπηση κατά την οποία τοποθετούνται ωάρια και σπερματοζώαρια μέσα στον αυλό της σάλπιγγας της γυναίκας, ώστε να πραγματοποιηθεί η γονιμοποίηση εντός της. Αντίθετα, στην τεχνική ZIFT, πραγματοποιείται η γονιμοποίηση στο εργαστήριο και στην συνέχεια η γυναίκα υποβάλλεται σε λαπαροσκοπική επέμβαση την επομένη ημέρα προκειμένου να γίνει η τοποθέτηση των πρώιμων εμβρύων στη σάλπιγγα.



Εικόνα 2. Τεχνική της ενδοσαλπιγγικής μεταφοράς γαμετών ή ζυγωτή (<http://www.drmlpani.com/knowledge-center/articles/zift>)

➤ **Μικροχειρουργική λήψη σπερματοζωαρίων.**

Σε σοβαρά περιστατικά ανδρών με αζωοσπερμία είναι δυνατή η λήψη σπερματοζωαρίων με μικροχειρουργικές τεχνικές. Οι μέθοδοι αναρρόφησης σπερματοζωαρίων γίνεται από την επιδιδυμίδα με τις τεχνικές (MESA, PESA) ή τους όρχεις (TESA) πια η διεθνής βιβλιογραφία θεωρεί περισσότερο αποτελεσματική μέθοδο ανεύρεσης σπερματοζωαρίων την βιοψία όρχεως (TESE) αφού συσχετίζεται με μικρότερα ποσοστά επιπλοκών και καλύτερα αποτελέσματα. Στη συνέχεια πραγματοποιείται η γονιμοποίηση με ICSI των ωαρίων που έχουν ληφθεί από την γυναίκα. ^[12]

➤ **Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (PGD, pre implantation genetic diagnosis). PGD**

Πραγματοποιείται σε ζευγάρια που και οι δύο μελλοντικοί γονείς είναι φορείς σοβαρής γενετικής ασθένειας με μεγάλη πιθανότητα μεταβίβασης στο έμβρυο. Επίσης προτείνεται σαν μέθοδος σε ζευγάρια με πολλά χρόνια υπογονιμότητας και μεγάλη ηλικία της μητέρας. Μετά τα αποτελέσματα του PGD τα υγιή έμβρυα μεταφέρονται στην μήτρα με την τεχνική της εξωσωματικής γονιμοποίησης ^[12]



Εικόνα 3. Δεξιά: διαδικασία μικροχειρουργικής λήψης σπερματοζωαρίων.

(http://www.sotiriskoukos.gr/content.php?content_id=54&lg=) Αριστερά: Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση

Κεφάλαιο 2

2.1 Τεχνική της εξωσωματικής γονιμοποίησης (*in vitro* fertilization / IVF)

Η εξωσωματική γονιμοποίηση είναι μία μέθοδος υποβοηθούμενης αναπαραγωγής η οποία γίνεται εκτός του σώματος της γυναίκας, δηλαδή η γονιμοποίηση του ωαρίου από το σπερματοζώαριο ενώ φυσιολογικά γίνεται στην σάλπιγγα της γυναίκας που είναι και το φυσικό περιβάλλον, με την μέθοδο αυτή γίνεται στο εμβρυολογικό εργαστήριο. Η εξωσωματική γονιμοποίηση αποτελείται από την ωοληψία, την γονιμοποίηση του ωαρίου από το σπερματοζώαριο η οποία πραγματοποιείται σε τρυβλίο στο εργαστήριο και τέλος, την εμβρυομεταφορά και εμφύτευση του εμβρύου στην μήτρα της γυναίκας. ^[17]

2.2 Ιστορική Αναδρομή

Εφαρμόστηκε για πρώτη φορά με επιτυχία στον άνθρωπο το 1978 από τους Βρετανούς επιστήμονες Steptoe και Edwards, με τη γέννηση της Louise Brown, του πρώτου παιδιού στον κόσμο μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση και εμβρυομεταφορά, το οποίο έγινε ευρέως γνωστό ως «test-tube baby».

Η εξωσωματική γονιμοποίηση χρησιμοποιήθηκε αρχικά για την αντιμετώπιση της υπογονιμότητας όπου υπεύθυνος ήταν ο γυναικείος παράγοντας. Σήμερα εφαρμογή της μεθόδου έχει επεκταθεί στην αντιμετώπιση και άλλων περιπτώσεων, όπως την υπογονιμότητα ανδρικού παράγοντα, καθώς επίσης και στην αντιμετώπιση της ανεξήγητη υπογονιμότητας.

2.3 Διαδικασία της εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF)

Η διαδικασία της τεχνικής της εξωσωματικής γονιμοποίησης περιλαμβάνει συγκεκριμένα βήματα τα οποία και είναι: ^[17,27]

➤ Διερεύνηση και διάγνωση της υπογονιμότητας.

Προκειμένου να εντοπιστεί το πρόβλημα της υπογονιμότητας θα πρέπει το ζευγάρι να υποβληθεί σε μία σειρά εξετάσεων. Η διερεύνηση της υπογονιμότητας της γυναίκας περιλαμβάνει ενδελεχή έλεγχο προκειμένου να εντοπιστούν συγκεκριμένες παθολογικές καταστάσεις οι οποίες μπορεί να είναι υπεύθυνες για την υπογονιμότητα.

- Αρχικά χρειάζεται η λήψη ενός ιατρικού ιστορικού όπου θα περιλαμβάνονται και πληροφορίες για την τακτικότητα του έμμηνου κύκλου της γυναίκας.
- Σημαντικός είναι ο ορμονικός έλεγχος της γυναίκας σε συγκεκριμένες ημέρες του κύκλου οι οποίες περιλαμβάνουν τον έλεγχο των FSH, LH, PRG, E2, AMH, TSH.
- Παράλληλα είναι σημαντικό να αποκλειστούν αίτια όπως ο σαλπιγγικός παράγοντας ή οι συγγενείς δυσπλασίες της μήτρας. Ο τρόπος εξέτασης γίνεται με την σαλπιγγογραφία, το υπερηχογράφημα έσω γεννητικών οργάνων και όταν υπάρχουν ενδείξεις σε σπάνιες περιπτώσεις γίνεται υστεροσκοπικός έλεγχος.
- Παράλληλα ο σύντροφος θα πρέπει να ακολουθήσει και αυτός κάνοντας μία σειρά από συγκεκριμένες εξετάσεις με κυριότερες εξ' αυτών το σπερμοδιάγραμμα και την καλλιέργεια σπέρματος.
- Οι κοινές εξετάσεις για το ζευγάρι πριν την διαδικασία της εξωσωματικής είναι ο έλεγχος για λοιμώδη νοσήματα.

- Σε περιπτώσεις ιδιοπαθούς υπογονιμότητας στο ζευγάρι μπορεί να προταθεί καρυότυπος ζεύγους.

➤ Ωοθηκική διέγερση.

Κύριος στόχος της ωοθηκικής διέγερσης είναι η στρατολόγηση ωοθυλακίων. Η σύγχρονη βιβλιογραφία επιβάλλει μία πιο "φιλική" διέγερση των ωοθηκών με στόχο την αποφυγή του συνδρόμου υπερδιέγερσης (OHSS) των ωοθηκών και τον πολύδυμων κυήσεων. Για τον λόγο αυτό εφαρμόζονται φαρμακευτικά πρωτόκολλα ελεγχόμενης διέγερσης της λειτουργίας των ωοθηκών, με σκοπό την πολλαπλή ανάπτυξη ωοθυλακίων. Από τα αρχικά φάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν είναι η κιτρική κλομιφαίνη (CC) υπό μορφή δίσκων 50mg, τα οποία και χρησιμοποιούνταν στην αρχή του κύκλου. Η CC έχει αντιστρογόνο δράση, η οποία δρα στον υποθάλαμο και την υπόφυση, καταστέλλοντας την αρνητική ανατροφοδότηση των οιστρογόνων. Έτσι έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της αποδέσμευση της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (GnRH) και επομένως αύξηση της συγκέντρωσης των γοναδοτροπινών (FSH, LH) στον ορό του αίματος.

Τα πιο δημοφιλή πρωτόκολλα είναι αυτά που στηρίζονται στην χρήση των γοναδοτροπινών και δεν είναι άλλες από την θυλακιοτρόπο ορμόνη (FSH) και την ωχρινοτρόπο ορμόνη (LH) καθώς και ανάλογα (αγωνιστές ή/ και ανταγωνιστές) της ορμόνης GnRH. Οι ορμόνες αυτές εκκρίνονται φυσιολογικά από την υπόφυση της γυναίκας, δρώντας στις ωοθήκες διεγείροντας τα ωοθυλάκιά της, προκαλώντας την ενεργοποίηση και την ωρίμανσή τους.

Η επιλογή του πρωτοκόλλου τίθεται βάση του προφίλ της ίδιας της γυναίκας (ηλικία, βάρος, ιστορικό). Παράλληλα με την διέγερση των ωοθηκών η γυναίκα παρακολουθείται υπερηχογραφικά για εκτίμηση της ανάπτυξης του ενδομητρίου καθώς και της ανάπτυξης των ωοθυλακίων. Πληροφορίες για την απάντηση της στο πρωτόκολλο διέγερσης μπορούμε να πάρουμε εξετάζοντας τα επίπεδα LH , E2 και PRG στο αίμα κατά την παρακολούθηση του κύκλου. ^[2,17]

➤ Πρόκληση της τελικής ωρίμανσης των ωαρίων

Το τελικό στάδιο είναι το οποίο θα προκαλέσει την ωοθυλακιόρρηξια περιλαμβάνει την χορήγηση της χοριακής γοναδοτροπίνης. Χορηγείται σε

συγκεκριμένη ώρα περίπου 36-38 ώρες πριν την ωοληψία σε μια δόση όταν κριθεί ότι η ωρίμανση των ωοθυλακίων είναι ικανοποιητική. μετά από φαρμακευτική θεραπεία είναι η ωοθυλακιόρρηξία. Με την συγκεκριμένη τεχνική μπορούμε να κάνουμε τον καλύτερο προγραμματισμό της ωοληψίας με μικρότερα ποσοστά ακύρωσης του κύκλου. ^[17]

➤ Ωοληψία

Η διαδικασία της απομόνωσης των ωοθυλακίων γίνεται με την μέθοδο της ωοληψίας, κατά την οποία πραγματοποιείται η συλλογή των ωαρίων που περιέχονται εντός τους, γίνεται 36-38 ώρες μετά την χορήγηση της ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης. Η ωοληψία πραγματοποιείται σε ειδική αποστειρωμένη αίθουσα της μονάδας που επικρατούν συνθήκες χειρουργείου. Η διαδικασία διενεργείται από τον γυναικολόγο με την χρήση υπερήχου και εκτελείται διακολπικά ώστε να υπάρχει ακρίβεια στους χειρισμούς του. Ακολουθεί διαδοχική παρακέντηση των ωοθυλακίων μέσω μιας βελόνης, που διαπερνά το τοίχωμα του κόλπου. Το περιεχόμενο του κάθε ωοθυλακίου μετά τη συλλογή μέσω της βελόνης αναρροφάται και τοποθετείται σε ειδικά σωληνάρια και παραδίδεται αμέσως στο εμβρυολογικό εργαστήριο. Ο εμβρυολόγος εφόσον εντοπίσει τα ωάρια έπειτα τα τοποθετεί σε τρυβλία με ένα ειδικό καλλιεργητικό θρεπτικό υλικό. Η ωοληψία θα πραγματοποιηθεί υπό ενδοφλέβια αναλγησία (ή μέθη) όπου θα χορηγηθεί από τον αναισθησιολόγο και διάρκειά της θα είναι 20-30 λεπτά. Μετά από την ωοληψία η γυναίκα παραμένει στον θάλαμο νοσηλείας για την παρακολούθησή της από 30 λεπτά έως 1 ώρα.

Η απομόνωση των σπερματοζωαρίων γίνεται με φυσικό τρόπο. Αμέσως μετά τη λήψη σπέρματος, γίνεται η ειδική επεξεργασία αυτού (ενεργοποίησης-συμπύκνωσης), όπου θα επιλεχτούν τα πλέον κινητά και μορφολογικά υγιή σπερματοζωάρια. Θα παραμείνουν στο εργαστήριο κάτω από άσηπτες συνθήκες καλλιέργειας με το ειδικό θρεπτικό υλικό μέχρι να γίνει η τοποθέτησή τους στο τρυβλίο και να πραγματοποιηθεί η επαφή τους με τα ωάρια και να γίνει τελικώς η γονιμοποίηση. ^[17,27]

➤ In vitro γονιμοποίηση και καλλιέργεια.

Μετά την συλλογή των γαμετών, ακολουθεί την ίδια μέρα η γονιμοποίηση στο εργαστήριο. Το σπέρμα και τα ωάρια επωάζονται μαζί (σε αναλογία περίπου

75,000:1) σε μέσα καλλιέργειας για περίπου 18 ώρες. Με το πέρας αυτών των ωρών συνήθως το ωάριο θα γονιμοποιηθεί και θα παρουσιάσει δύο προπυρήνες στον έλεγχο της γονιμοποίησης. Ο εμβρυολόγος ελέγχει στο μικροσκόπιο και καταγράφει πόσα ωάρια έχουν γονιμοποιηθεί φυσιολογικά, ενώ απομονώνει εκείνα που δεν έχουν γονιμοποιηθεί ή εκείνα που έχουν γονιμοποιηθεί ανώμαλα. Τα φυσιολογικά έμβρυα τοποθετούνται και πάλι σε καλλιέργεια και συνεχίζουν να αναπτύσσονται.

Τα εργαστήρια έχουν αναπτύξει μεθόδους βαθμολόγησης προκειμένου να κρίνουν την ποιότητα των εμβρύων. Τα έμβρυα αξιολογούνται και επιλέγονται με βάση δύο μορφολογικών κριτηρίων: αφ' ενός τη διαίρεση των εμβρύων σε βλαστομερίδια (6-8 κύτταρα) και αφ' ετέρου τη μορφολογική εμφάνιση των κυττάρων αυτών. Μετά από 5-6 ημέρες καλλιέργειας το έμβρυο θα πρέπει να αποτελείται από 60-120 κύτταρα και να βρίσκεται στο στάδιο της βλαστοκύστης (έτοιμο για εμφύτευση).^[13]

➤ Εμβρυομεταφορά

Η εμβρυομεταφορά είναι η διαδικασία με την οποία τα έμβρυα τα οποία έχουν γονιμοποιηθεί και αναπτυχτεί επαρκώς γίνεται η μεταφορά τους στην κοιλότητα της μήτρας. Η διάρκεια της είναι περίπου 5-10 λεπτά και δεν απαιτείται η χορήγηση αναλγησίας αφού δεν πονά. Επιτυγχάνεται με τη βοήθεια ενός λεπτού εύκαμπτου καθετήρα που προωθείται μέσα στον κόλπο και τον τράχηλο για να καταλήξει στην ενδομητρική κοιλότητα. Η επιλογή των καλύτερων εμβρύων γίνεται από τον εμβρυολόγο σύμφωνα με τα μορφολογικά διεθνή κριτήρια αξιολόγησης των εμβρύων. Μέσω ενός λεπτού καθετήρα αναρροφά το περιεχόμενο μέσα σε ελάχιστο όγκο καλλιεργητικού μέσου. Στην συνέχεια ο γυναικολόγος με υπερηχογραφική καθοδήγηση θα εισάγει τον καθετήρα στην ενδομήτρια κοιλότητα όπου θα εναποθέτει τα έμβρυα με ήπιους και ατραυματικούς χειρισμούς.

Η εθνική νομοθεσία ορίζει πως ο αριθμός αυτός δεν μπορεί να υπερβαίνει τα δύο για γυναίκες κάτω των 40 ετών και τα τρία για γυναίκες άνω των 40 ετών. Η εμφύτευση των εμβρύων στο ενδομήτριο γίνεται μετά από 4 με 5 ημέρες μετά την εμβρυομεταφορά της 2ης ή 3ης ημέρας και 1-2 ημέρες μετά την εμβρυομεταφορά βλαστοκύστης.^[13]

➤ **Περίοδος μετά την εμβρυομεταφορά.**

Η εμφύτευση των εμβρύων γίνεται μέσα στο διάστημα των επόμενων 2-3 ημερών από την εμβρυομεταφορά.

Για να διαπιστώσουμε την εγκυμοσύνης συνήθως πραγματοποιείται η μέτρηση των επιπέδων στο αίμα της β- χοριακής γοναδοτροπίνης περίπου την 14η ημέρα μετά την εμβρυομεταφορά. Οι οδηγίες οι οποίες δίνονται για το πρώτο χρονικό διάστημα μετά την εμβρυομεταφορά, περιλαμβάνουν την ξεκούραση με αποφυγή της έντονης σωματικής δραστηριότητας καθώς και την σεξουαλική επαφή.

3.1 Ορισμός της μικρογονιμοποίησης (ICSI)

Η μικρογονιμοποίηση ICSI (ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος) είναι μία μέθοδος που περιλαμβάνει την εισαγωγή ενός σπερματοζωαρίου απευθείας στο κυτταρόπλασμα του ωαρίου (Van Steirteghem et al, 1993a).

Η τεχνική της μικρογονιμοποίησης ICSI ενδείκνυται κατά κανόνα σε περιπτώσεις σοβαρής ανδρικής υπογονιμότητας όπως oligospermia (χαμηλός αριθμός σπερματοζωαρίων), asthenospermia (χαμηλή κινητικότητα σπερματοζωαρίων, παρουσία αντισπερμικών αντισωμάτων), καθώς και σε περιπτώσεις προηγούμενης ανεξήγητης αδυναμίας γονιμοποίησης των ωαρίων με τη συμβατική μέθοδο εξωσωματικής γονιμοποίησης.^[6]

3.2 Ιστορική Αναδρομή.

Η τεχνική αναπτύχθηκε από τον Gianpiero Palermo στο Vrije Universiteit Brussel, στο Κέντρο Αναπαραγωγικής Ιατρικής με επικεφαλής τον Paul Devroey και τον Andre Van Steirteghem.

Η διαδικασία αυτή παρουσιάστηκε για πρώτη φορά σε επίπεδο εργαστηρίου το 1987. Το πρώτο γονιμοποιημένο έμβρυο από την ICSI δημιουργήθηκε το 1990, αλλά η πρώτη επιτυχής γέννηση από την ICSI πραγματοποιήθηκε στις 14 Ιανουαρίου 1992 μετά από σύλληψη του Απριλίου 1991.

Η Sharpe et al σχολίασε μετά την επιτυχία της ICSI από το 1992, λέγοντας ότι χάρη στην συγκεκριμένη τεχνική παρακάμπτεται σχεδόν στο σύνολό τους τα αίτια υπογονιμότητας που σχετίζονται με τον ανδρικό παράγοντα. Η επιτυχία της ICSI έχει ελαττώσει την ανάγκη για διερεύνηση της αιτίας της ανδρικής υπογονιμότητας. Η προσοχή τώρα εστιάζεται περισσότερο πάνω στον γυναικείο παράγοντα με σκοπό την βελτίωση των ωαρίων και την υποδεκτικότητα του ενδομήτριου, από το οποίο εξαρτάται πια η επιτυχία της ICSI.^[6]

3.3 Διαδικασία της μικρογονιμοποίησης.

Η τεχνική ICSI χρησιμοποιήθηκε σε ζευγάρια με επαναλαμβανόμενες αποτυχίες γονιμοποίησης *in vitro* ακόμα και όταν το σπέρμα είχε καλά χαρακτηριστικά και μπορούσε να χαρακτηριστεί φυσιολογικό σύμφωνα με τα κριτήρια της παγκόσμιας οργάνωσης υγείας (WHO). Περιπτώσεις απόλυτης αποφρακτικής ή μη αποφρακτικής αζωοσπερμίας αντιμετωπίστηκαν με βιοψία σπερματοζωαρίων από ορχικό επιθήλιο (TESE; Testicular Sperm Extracrtion) ή επιδιδυμίδα (MESA; MicroEpidydimal Sperm Aspiration) με υψηλά ποσοστά κύησης (Silber et al, 1994; Patrizio et al, 1995).

Η διαδικασία προβλέπει ότι η γυναίκα έχει υποστεί διέγερση ωοθηκών με φάρμακα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι παράγοντες όπως η ηλικία της μητέρας και η ποιότητα και η ποσότητα των ωαρίων έχουν μεγαλύτερο αντίκτυπο στην επιτυχία της ICSI από τη σοβαρότητα των ανωμαλιών του σπέρματος. Το δείγμα σπέρματος αφότου παρθεί προετοιμάζεται με φυγοκέντρηση. Με αυτή την διαδικασία στο διάλυμα θα διαχωριστούν τα καλύτερης ποιότητας σπερματοζωάρια. ^[6,7]

Η τεχνική για την ICSI περιλαμβάνει τη χρήση εξεζητημένων οργάνων και απαιτεί έναν εκπαιδευμένο εμβρυολόγο. Οι διαδικασίες θα πρέπει να προστατεύουν τους γαμέτες από τις μεταβολές της θερμοκρασίας, του pH και τις διακυμάνσεις, οι οποίες μπορεί να διαταράζουν την άτρακτο και να συμβάλλουν στην ανώμαλη κατανομή των χρωμοσωμάτων. ^[6,7]

Για την ακριβέστερη απεικόνιση γαμετών και μικροχειριστηρίων θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένα ανεστραμμένο μικροσκόπιο με οπτικά υψηλής ποιότητας (π.χ. Nomarski ή Hoffman), μειώνοντας έτσι τη βλάβη των ωοκυττάρων ενώ βελτιστοποιούν τα ποσοστά γονιμοποίησης. Τα μικροχειριστήρια προσφέρουν τη δυνατότητα χειρισμού των γαμετών με ακριβείς κινήσεις σε μικροσκοπικά επίπεδα.

Τα ωοκύτταρα απογυμνώνονται από τα κοκκώδη κύτταρα με έκθεση στην υαλουρονιδάση και τα κύτταρα που απομένουν αναρροφώνται ήπια με την βοήθεια της πιπέτας. Η υπερβολική έκθεση στην υαλουρονιδάση ή ο επιθετικός χειρισμός των ωοκυττάρων για την απομάκρυνση του ωοπλάσματος μπορεί να ενεργοποιήσουν σε

επιμέρους γενετικές διαδικασίες τα ωκύτταρα ή να αλλάζουν θέση εμφάνισης του πρώτου πολικού σωματίου. Από τον εμβρυολόγο επιλέγονται τα ωκύτταρα που βρίσκονται στην μεταφάση II. ^[5]

Μια πιπέτα που περιέχει ένα ακινητοποιημένο σπερματοζωάριο ωθείται απαλά μέσα από το ωόπλασμα και την κυτταροπλασματική μεμβράνη στο κέντρο του ωοκυττάρου. Τα σπερματοζωάρια πρέπει να παρέχονται με τη μικρότερη δυνατή ποσότητα θρεπτικού υλικού. Στη συνέχεια χρησιμοποιείται αρνητική πίεση για τη διάσπαση της ζώνης ακολουθούμενη από απαλή αναρρόφηση του ωοπλάσματος. Αυτή η διαδικασία μιμείται τα τελευταία στάδια της γονιμοποίησης σιγουρεύοντας την παράδοση όλων αυτών των απαιτήσεων που έχει το ωάριο για την διαδικασία της γονιμοποίησης και της εμβρυογένεσης. Οι παράγοντες που προσφέρονται από το σπερματοζωάριο είναι το πατρικό DNA, τα κεντρόλια από τον αυχένα του σπερματοζωαρίου που βοηθάνε στον σχηματισμό της μιτωτικής ατράκτου για την κυτταρική διαίρεση. Τέλος τον παράγοντα ενεργοποίησης του ωαρίου που έχει την ικανότητα να αυξάνει την ενδοκυτταρική συγκέντρωση του ασβεστίου του ωαρίου.

Η ICSI με τη βοήθεια λείζερ είναι μια καινοτόμος προσέγγιση που έχει χρησιμοποιηθεί σε ασθενείς με ιστορικό ανεπιτυχής προσπάθειας με ICSI και με περιορισμένα ωάρια στην μεταφάση II. Αυτή η τεχνική είναι λιγότερο τραυματική για τα ωάρια, κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ICSI, και έχει ως αποτέλεσμα βελτιωμένα ποσοστά γονιμοποίησης και ποιότητα εμβρύου. ^[5,6]

Τα αποτελέσματα της ICSI εξαρτώνται επίσης σε μεγάλο βαθμό από την τεχνική και την εμπειρία του εμβρυολόγου. Οποιοδήποτε μη φυσιολογικά γονιμοποιημένο ωκύτταρο που προέρχεται από ICSI θα πρέπει να απορρίπτεται και να μην λαμβάνεται υπόψη για την εμβρυομεταφορά. ^[5,6]

4.1 Ενδείξεις επιλογής για IVF

Σε μελέτη του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) για 8500 υπογόνιμα ζευγάρια, η γυναικεία υπογονιμότητα αναφέρθηκε στο 37% των παραγόντων και η ανδρική υπογονιμότητα μόλις στο 8%. Η υπογονιμότητα των ανδρών και των γυναικών στο 35%. Τα υπόλοιπα ζευγάρια είχαν ανεξήγητη υπογονιμότητα ή έμειναν έγκυες κατά τη διάρκεια της μελέτης. Τα πιο κοινά αίτια της υπογονιμότητας των γυναικών αντιπροσώπευαν το 80% και ήταν:

- Διαταραχές ωοθυλακιορρηξίας (25%)
- Ενδομητρίωση (5-10%)
- Διαταραχές της λειτουργίας των σαλπίγγων (20-25%)
- Υπερπρολακτιναιμία (7%)
- Σπανιότερα αίτια (5-10%)

Με την προχωρημένη ηλικία της γυναίκας έχει παρατηρηθεί μια αύξηση του ποσοστού των γυναικών με υπογονιμότητα η οποία σχετίζεται καθαρά με την ηλικία. Όλα τα παραπάνω αποτελούν σοβαρές ενδείξεις για να οδηγηθεί ένα ζευγάρι στην διαδικασία της IVF. Σύμφωνα με το Βασιλικό Κολλέγιο Γυναικολόγων (RCOG) τα ζευγάρια τα οποία αντιμετωπίζουν μέτριες διαταραχές του σπέρματος, ανεξήγητη υπογονιμότητα και μέτριου βαθμού ενδομητρίωση συστήνεται η αντιμετώπιση με παρακολούθηση της ωοθυλακιορρηξίας σε συνδυασμό με ενδομήτρια σπερματέγχυση (IUI). Μετά το πέρας των 6 κύκλων συνιστάτε στα ζευγάρια να καταφεύγουν σε IVF.

Μια ακόμη ένδειξη για την οποία αρκετά ζευγάρια επιλέγουν την IVF είναι μια κληρονομική γενετική ασθένεια την οποία επιθυμούν να αποφύγουν να μεταδώσουν στο παιδί τους. Σε αυτή την περίπτωση, η εξωσωματική γονιμοποίηση συνδυάζεται με προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (PGD). Αυτό σημαίνει ότι τα έμβρυα (ή σε ορισμένες περιπτώσεις, μόνο τα ωάρια) που προκύπτουν από την IVF ελέγχονται εάν νοσούν και μόνο εκείνα που είναι υγιή μεταφέρονται στη μήτρα.^[12]

Τέλος, σε σοβαρές περιπτώσεις ωοθηκικής ανεπάρκειας, όταν έχουν εξαντληθεί οι υπόλοιπες επιλογές η IVF με δότρια ωαρίων αποτελεί την μοναδική λύση.

4.2 Ενδείξεις επιλογής για ICSI

Η μικρογονιμοποίηση (ICSI) επινοήθηκε και εφαρμόζεται κυρίως για τη αντιμετώπιση της υπογονιμότητας εξαιτίας κάποιου σοβαρού ανδρικού παράγοντα.

Η γονιμότητα στους άνδρες απαιτεί φυσιολογική λειτουργία του υποθαλάμου και της υπόφυσης (αδένες που παράγουν ορμόνες στον εγκέφαλο) και των όρχεων. Ως εκ τούτου, μια ποικιλία συνθηκών μπορεί να οδηγήσει σε στειρότητα. ^[17,18]

- Περίπου 2 - 5% των περιπτώσεων οφείλονται σε καταστάσεις που επηρεάζουν την υπόφυση ή τον υποθάλαμο.
- Περίπου το 5% οφείλεται σε διαταραχές κατά την εκσπερμάτωση ή απόφραξη σπερματικού πόρου και της επιδιδυμίδας.
- Περίπου 65 - 80% των περιπτώσεων οφείλονται σε ένα πρόβλημα στους όρχεις που οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή σπέρματος (από το οποίο περίπου 10% συνδέονται με έλλειψη τεστοστερόνης).
- Περίπου το 10-20% των ανδρών με στειρότητα δεν έχουν αναγνωρίσιμη αιτία ή ανωμαλία, ακόμη και μετά από εκτεταμένη αξιολόγηση.

Μέσα στα συχνά αίτια της ανδρικής υπογονιμότητας που οδηγούν σε καταστάσεις υπογονιμότητας όπως oligospermia, asthenospermia, teratospermia και azoospermia είναι οι γενετικές ανωμαλίες όπως το σύνδρομο Klinefelter και το σύνδρομο Kallman. Επίσης αυτοσωμικές διαταραχές όπως μικροελλείψεις του Y χρωμοσώματος και η κυστική ίνωση, είναι καταστάσεις που μπορεί να οδηγήσουν σε μειωμένη σπερματογένεση azoospermia ως και oligospermia. ^[27]

Απόλυτες ενδείξεις για ICSI είναι ο σοβαρός ανδρικός παράγοντας που περιλαμβάνει τα εξής: ^[17,18]

- Βαριά oligoasthenospermia (το ακριβές όριο αριθμού, κινητικότητας, μορφολογίας των σπερματοζωαρίων ποικίλλει ανάλογα με τις μελέτες).
- Παντελής απουσία κινητών σπερματοζωαρίων (azoospermia).
- Τερατοσπερμία (<4% σπερματοζωάρια με φυσιολογική μορφολογία).

- Απουσία ακροσώματος (μια σπάνια πάθηση που ονομάζεται γλοβοζωοσπερμία).
- Υψηλός τίτλος αντισπερμικών αντισωμάτων
- Εκτεταμένη συγκόλληση των σπερματοζωαρίων.
- Προηγούμενη αποτυχία γονιμοποίησης με φαινομενικά φυσιολογικό σπέρμα.

Επίσης, η μικρογονιμοποίηση μπορεί να εφαρμοσθεί, σε ειδικές περιπτώσεις, και για άλλους λόγους, όπως ή περίπτωση διατήρησης γονιμότητας σε ασθενείς με καρκίνο που είχαν κάνει κατάψυξη σπέρματος. Τέλος σε περιπτώσεις αποτυχίας σε επανειλημμένες IVF η ICSI έχει ένδειξη.

4.3 Σύγκριση των δύο μεθόδων

Η κλασσική IVF και η ICSI είναι δύο κοινές τεχνικές για την επίτευξη γονιμοποίησης. Η εξωσωματική γονιμοποίηση έχει χρησιμοποιηθεί από καιρό για τη θεραπεία της υπογονιμότητας, αν και δεν αποτελεί πάντα αποτελεσματική θεραπεία σε περιπτώσεις σοβαρής ανδρικής υπογονιμότητας. Η χρήση της ICSI εφαρμόζεται σε περιπτώσεις με σοβαρό ανδρικό παράγοντα υπογονιμότητας και αποτυχία γονιμοποίησης μετά από κύκλους IVF. Παρά την εκτεταμένη χρήση της ICSI σε ασθενείς με υπογονιμότητα μη ανδρικού παράγοντα, δεν έχει ακόμη επιβεβαιωθεί οριστικά η αποτελεσματικότητά της σε αυτόν τον πληθυσμό.

Για να μπούμε σε μία διαδικασία να δούμε αν η τεχνική της μικρογονιμοποίησης μπορεί να έχει εφαρμογή σε πιο ευρύ φάσμα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής συγκρίναμε τις δύο μεθόδους μέσω των εξής παραγόντων: ^[17,18]

- Την ασφάλεια της κάθε μεθόδου
- Την προχωρημένη ηλικία της γυναίκας
- Τις πτωχές απαντήσεις
- Κρυοσυντήρηση ωαρίων
- Ανεξήγητη υπογονιμότητα
- Ποσοστό γονιμοποίησης
- Κόστος της κάθε τεχνικής

- Ασφάλεια της κάθε μεθόδου

Η τεχνική της ICSI σε σχέση με την κλασσική IVF τείνει να είναι πιο επεμβατική. Ένα μικρό ποσοστό των ωαρίων υφίστανται βλάβες, παρά τις προφυλάξεις που λαμβάνουμε. Επίσης με την κλασσική μέθοδο της IVF 50.000-100.000 σπερματοζωάρια επωάζονται μαζί με ένα ωοκύτταρο σε ένα τρυβλίο Petri. Ενώ στην ICSI ένα μοναδικό σπερματοζωάριο εισάγεται κατευθείαν μέσα στο ωάριο. Αύτη η διαδικασία παρακάμπτει όλα τα εμπόδια της φυσικής επιλογής σπέρματος. Ανησυχίες έχουν εκφραστεί για τη χρήση της ICSI και κυρίως για την χρήση σπέρματος με μία πιο άωρη μορφή παραδείγματος χάρη από την επιδιδυμίδα ή τον όρχη. Θεωρητικά το σπέρμα μπορεί να κουβαλάει γενετικές ή ανατομικές ανωμαλίες όπως επίσης υπάρχει περίπτωση να προκαλούνται χημικές ή μηχανικές βλάβες στο ωοκύτταρο λόγω εισαγωγής ξένου υλικού. ^[11,12,17]

Τα μεγέθη που συγκρίνουμε και ελέγχουμε στις δύο μεθόδους είναι:

- το περιγεννητικό αποτέλεσμα,
- οι εμφανίση συγγενών ανωμαλιών στα έμβρυα,
- η ψυχοκινητική ανάπτυξη των παιδιών,
- η σωματική ανάπτυξη τους,
- τα σύνδρομα γονιδιακής αποτύπωσης και
- την αναπαραγωγική τους υγεία.

Οι περισσότερες πληροφορίες προήλθαν από μεγάλη Δανέζικη μελέτη όπου συγκρίθηκαν τα νεογνά που γεννηθήκαν από τρεις ομάδες. Από ζευγάρια που τεκνοποίησαν σε διάστημα μικρότερο των 12 μηνών, υπογόνημα ζευγάρια που τεκνοποίησαν σε διάστημα μεγαλύτερο των 12 μηνών χωρίς θεραπεία και από ζευγάρια που έλαβαν θεραπεία για υπογονιμότητα. Ο κίνδυνος για γέννηση SGA (χαμηλού βάρους γέννηση) νεογνού μετά από μονήρη κύηση που έγινε μετά από ART αυξάνεται κατά 40%. Ο κίνδυνος αυτός είναι αυξημένος και σε υπογόνημα ζευγάρια που τελικά τεκνοποίησαν χωρίς να λάβουν θεραπεία. Επιμέρους η σύγκριση της ICSI με την IVF δεν είχε στατιστικά σημαντική διαφορά στο περιγεννητικό αποτέλεσμα. ^[19,29,30]

Δεν υπάρχει μεγάλη στατιστική διαφορά ανάμεσα στην επιλογή της μεθόδου σε σχέση με την προωρότητα γέννησης ενός νεογνού. Γενικότερα η υποβοηθούμενη αναπαραγωγή έχει ενοχοποιηθεί σαν ένας παράγοντας κινδύνου για πρόωρο τοκετό. Η σωματική και ψυχική ανάπτυξη των παιδιών που γεννηθήκαν με ICSI σε σχέση με την φυσική σύλληψη δεν δείχνουν σημαντικά στατιστικές διαφορές στις καμπύλες ανάπτυξης. Σε μεγάλη πολυκεντρική μελέτη για την γνωστική ανάπτυξη σε παιδιά 5-8 ετών από μονήρης κήσεις ελέγχθηκαν τα αποτελέσματα μετά από ICSI, μετά από IVF και μετά από φυσιολογική σύλληψη. Φάνηκε ότι το IQ score των παιδιών ICSI ήταν χαμηλότερο από τα παιδιά της IVF. Η μέση τιμή της διαφοράς IQ ήταν 3,6 βαθμοί, μετά όμως από την ταξινόμηση των τιμών IQ στις τρεις ομάδες δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στην κατανομή των τιμών. Τα παιδιά της ICSI είχαν χαμηλότερο IQ score από τα παιδιά που η σύλληψη έγινε φυσιολογικά, η μέση τιμή της διαφοράς ήταν 5,7 βαθμοί. Η σύγκλιση ως προς την προωρότητα δεν άλλαξε τα αποτελέσματα. ^[29]

Πρόσφατες επιδημιολογικές έρευνες με μεγάλο αριθμό περιστατικών έδειξαν ότι το ποσοστό εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών σε νεογνά που η σύλληψη έγινε μετά από ICSI δεν είναι ιδιαίτερα αυξημένο και προσδιορίζεται σχεδόν στο 2,7%. Το ποσοστό αυτό βρέθηκε ότι είναι περίπου το ίδιο όταν η εγκυμοσύνη προέρχεται από κλασσική εξωσωματική γονιμοποίηση, ή από φυσιολογική σύλληψη.

Δεδομένου ότι η ανδρική υπογονιμότητα μπορεί να είναι γενετικής φύσεως, υπάρχει μεγάλη πιθανότητα οι άνδρες να μεταφέρουν την υπογονιμότητα στα άρρενα τέκνα τους. Αυτό σημαίνει ότι τα παιδιά αυτά είναι πιθανόν να χρειασθούν τη βοήθεια των μεθόδων υποβοηθούμενης γονιμοποίησης (ICSI) όταν αποφασίσουν να γίνουν πατέρες. Πιθανόν γενετικές βλάβες όπως μικροελλείψεις του ανδρικού φυλετικού χρωμοσώματος Y, οπότε είναι πιθανόν η βλάβη να μεταφερθεί στα άρρενα τέκνα των ανδρών αυτών, όταν φθάσουν σε αναπαραγωγική ηλικία, τα αγόρια αυτά θα εμφανίσουν πιθανώς την ίδια αζωοσπερμία με τον πατέρα τους. ^[19,29]

- **Προχωρημένη ηλικία της γυναίκας**

Τα ωάρια μεγαλύτερης ηλικίας γυναικών έχουν θεωρηθεί ότι έχουν δομικά ελαττώματα που θα μπορούσαν να μειώσουν την επιτυχία της γονιμοποίησης, καθιστώντας την ICSI σαν προτιμώμενη μέθοδο για την αποφυγή της αποτυχίας

γονιμοποίησης. Αυτό συμβαίνει σε 5-15% στους κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης. Ωστόσο, δεν υπάρχουν κλινικά δεδομένα που να υποστηρίζουν αυτήν την υπόθεση. Σε μεγάλη μελέτη εξετάστηκε η γονιμοποίηση των ωαρίων σε 364 κύκλους IVF σε γυναίκες 45 ετών και άνω χωρίς την παρουσία ανδρικού παράγοντα και διαπιστώθηκαν παρόμοια ποσοστά γονιμοποίησης (51% έναντι 56%) και ποσοστό αποτυχίας γονιμοποίησης (27% έναντι 28%) για την IVF και την ICSI αντίστοιχα. Το συμπέρασμα της μελέτης ήταν ότι οι μεγαλύτερης ηλικίας γυναίκες δεν έχουν μειωμένα ποσοστά γονιμοποίησης με την κλασσική εξωσωματική γονιμοποίηση σε σχέση με την ICSI. Στη μελέτη, η αποτυχία γονιμοποίησης εμφανίστηκε στο 9% των κύκλων και δεν διέφερε μεταξύ των ομάδων IVF και ICSI.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατηρούμε αναλυτικά ότι στην ομάδα ICSI είχαν προηγηθεί περισσότεροι κύκλοι IVF και έτσι μπορεί να υποστηριχθεί ότι η ICSI πέτυχε παρόμοια ποσοστά ζωντανών γεννήσεων παρά την χρήση της μεθόδου σε ασθενείς με κακή πρόγνωση. Τα αποτελέσματα της εγκυμοσύνης ήταν παρόμοια μεταξύ των ομάδων αν και υπάρχει μια τάση με χαμηλότερες ζωντανές γεννήσεις και στις δύο ομάδες σε σύγκριση με όλη την ομάδα, που μπορεί να αντανάκλα την καλύτερη διέγερση που είχαν οι γυναίκες στους επόμενους κύκλους τους σε σύγκριση με τον πρώτο κύκλο διέγερσης των ωοθηκών. ^[18]

Treatment outcomes.

	IVF (n = 255)	ICSI (n = 490)	P-value
Number of oocytes retrieved	7.2 ± 5.5	6.5 ± 5.7	0.18
Number of MII oocytes	6.1 ± 4.6	4.7 ± 3.5	<0.0001
Fertilization rate per oocyte retrieved	57%	52%	0.037
Fertilization rate per MII oocytes	64%	67%	0.25
Total fertilization failure ^a	23 (9.0%)	48 (9.7%)	0.73
Cycles with no embryo transfer ^{a,b}	28 (10.9%)	64 (13.0%)	0.07
Number of zygotes	4.48 ± 3.47	3.66 ± 2.75	0.001
Number of embryos transferred	1.48 ± 0.52	1.57 ± 0.51	0.02
Cycles with single embryo transfer ^a	116 (51.1%)	181 (42.5%)	0.03
Day of embryo transfer	3.5 ± 1.2	3.2 ± 1.1	0.0016
Cycles with blastocyst stage transfer ^a	81 (36%)	110 (26%)	0.005
Number of embryos frozen	2.5 ± 1.9	1.7 ± 1.1	0.002
Pregnancy rate ^{a,d}	67 (29.5%)	97 (22.8%)	0.70
Clinical pregnancy rate ^{a,d}	48 (21.1%)	71 (16.7%)	0.82
Live birth rate ^{a,d}	27 (11.9%)	41 (9.6%)	0.71

MI, Metaphase II.

^an (%).

^bCycles with fertilization failure and cycles with arrested embryo development.

^c337 embryos were transferred in the IVF group and 668 embryos were transferred in the ICSI group.

^dP-value after logistic regression controlling for confounders.

- **Πτωχή απάντηση**

Σύμφωνα με μεγάλη μελέτη, ελέγχθηκε η αποτελεσματικότητα της διέγερσης των ωοθηκών για ICSI σε φτωχές απαντήτριες, που πληρούν τα κριτήρια της Μπολόνια για τον ορισμό της πτωχής απάντησης των ωοθηκών. Συνολικά, συμπεριλήφθηκαν 485 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε 823 κύκλους διέγερσης των ωοθηκών για IVF και ICSI με μέγιστη δόση γοναδοτροφίνης (≥ 300 IU) μεταξύ Ιανουαρίου 2009 και Δεκεμβρίου 2011. Οι ασθενείς επιλέχθηκαν ανεξάρτητα από το πρωτόκολλο θεραπείας, εάν πληρούσαν τις προϋποθέσεις για πτωχή απάντηση από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας, βάση των κριτηρίων της Μπολόνια. Τα ποσοστά ζωντανών γεννήσεων δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των γυναικών ηλικίας <40 ετών και των γυναικών ηλικίας 40 ετών και άνω ανά κύκλο (7,1 έναντι 5,2%, ή 1,38, 95% CI 0,77-2,46) ή ανά ασθενή (11,6 έναντι 8,8%, ή 1,36, 95 % CI 0.75-2.46). Στην ανάλυση, ο αριθμός των ωαρίων που ανακτήθηκαν ήταν η μόνη μεταβλητή που συνδέεται σημαντικά με τις ζώντες γεννήσεις (OR 1,92, 95% CI 1,03-3,55 για > 3 έναντι 1-3 ωαρίων). Οι φτωχές απαντήτριες με τα κριτήρια την Μπολόνια επιδεικνύουν πολύ χαμηλά ποσοστά ζωντανών γεννήσεων, ανεξάρτητα από την ηλικία και το χρησιμοποιούμενο πρωτόκολλο θεραπείας. Η αύξηση του αριθμού των ωαρίων που ανακτήθηκαν είναι μια ανεξάρτητη μεταβλητή που σχετίζεται με τα ποσοστά ζωντανών γεννήσεων.

Συμπεραίνουμε ότι οι γυναίκες με φτωχή απάντηση των ωοθηκών έχουν τυπικά λιγότερα ωάρια θέτοντας το δίλημμα σχετικά με την τεχνική της γονιμοποίησης. Η παρακάτω μελέτη διερεύνησε την επίδραση των τεχνικών IVF και ICSI σε ασθενείς με 4 ωοκύτταρα ή λιγότερο ή γυναίκες μεγαλύτερες από 40 ετών.

Συγκεκριμένα η μελέτη έγινε σε 315 ασθενείς που είχαν κάνει IVF ή ICSI. Η ομάδα περιελάμβανε 205 ασθενείς ηλικίας άνω των 40 ετών και 110 ασθενείς που ορίστηκαν ως ασθενείς με πτωχή απάντηση βάση του αριθμού του ωαρίων 4 ή λιγότερα. Εξωσωματική γονιμοποίηση έγινε σε περιπτώσεις με φυσιολογικό σπερμοδιάγραμμα. Η ICSI πραγματοποιήθηκε με βάση του αίτημα των γιατρών ή ασθενών ή με περιπτώσεις χαμηλό αριθμό σπερματοζωαρίων. Συνολικά οι 107 ασθενείς υποβλήθηκαν σε ICSI και 208 είχαν εξωσωματική γονιμοποίηση. Σε 218 ασθενείς η ανάλυση σπέρματος ήταν εντός φυσιολογικών ορίων. Μεγαλύτερος ρυθμός επίτευξης εγκυμοσύνης επιτεύχθηκε με την εξωσωματική γονιμοποίηση σε σύγκριση με το ICSI Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω αποτελέσματα, συνιστάται

με την παρουσία φυσιολογικού αριθμού σπερματοζωαρίων, η τεχνική επιλογής για τους φτωχές απαντήτριες να είναι και τις μεγαλύτερες σε ηλικία γυναίκες να είναι η εξωσωματική γονιμοποίηση παρά η ICSI. ^[13]

Η ανάλυση της μελέτης ακολουθεί στον παρακάτω πίνακα.

	IVF	ICSI	P
# of Cycles	72	38	NS
FSH mIU/ml	9.28	9.76	NS
#of Oocytes	2.8	2.9	NS
Embryos transferred	1.5	1.5	NS
Clinical Pregnancy	11(15.2%)	2(5.2%)	NS

- **Κρυοσυντήρηση ωαρίων**

Η παραδοσιακή αντίληψη για τον τρόπο γονιμοποίησης των ωοκυττάρων σε έναν κύκλο ωρίμανσης in vitro (IVM) ήταν ότι θα πρέπει να διεξαχθεί ICSI για να εξασφαλιστεί επιτυχής γονιμοποίηση. Αυτή η υπόθεση δοκιμάστηκε σε μια τυχαιοποιημένη μελέτη με θέμα την κλασσική IVF έναντι του ICSI σε κύκλους με IVM. Συνολικά 150 ανώριμα ωοκύτταρα συλλέχθηκαν σε οκτώ κύκλους IVM για γυναίκες που διαγνώστηκαν με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS). Στις γυναίκες αυτές δόθηκε η ελάχιστη δόση FSH. Τα ωάρια γονιμοποιήθηκαν το 50% με IVF και το 50% με ICSI. Δεν υπήρξε σημαντική διαφορά στη γονιμοποίηση, στην αξιοποίηση ή στην ολική ανάπτυξη βλαστοκύστης μεταξύ των δύο ομάδων. Τα αποτελέσματα της κλινικής εγκυμοσύνης ήταν ίδια μεταξύ των δύο τεχνικών με συνολικά δύο φρέσκα και πέντε κρυοσυντηρημένα έμβρυα με την τεχνική της IVF, με αποτέλεσμα τρεις κλινικές εγκυμοσύνες (42,9%) και πέντε φρέσκα και δύο κρυοσυντηρημένα έμβρυα που προέρχονται από ICSI με αποτέλεσμα τρεις κλινικές εγκυμοσύνες (42,9%). Αυτή η έρευνα έχει δείξει ότι η IVF είναι μια καλή τεχνική γονιμοποίησης για τα ωοκύτταρα IVM σε ασθενείς με PCOS. Η ωρίμανση in vitro (IVM) είναι μια εναλλακτική μέθοδος αντιμετώπισης της παραδοσιακής

εξωσωματικής γονιμοποίησης, λόγω της ελάχιστης χρήσης ορμονών σε αυτή τη έχοντας έτσι μικρότερο κίνδυνο για σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών. [13]

Αρχικές μελέτες σχετικά με τις επιδράσεις της IVM κατέδειξαν μια επίδραση σκλήρυνσης στη μεμβράνη που περιβάλλει το ωάριο συγκεκριμένα στην διάφανη ζώνη (zona pellucida). Αρχικά υπήρξε η θεωρία, ότι για να ξεπεραστεί αυτή η σκλήρυνση προκειμένου να επιτραπεί η γονιμοποίηση του ωαρίου, τα σπερματοζωάρια θα πρέπει να εγχυθούν στο ωάριο χρησιμοποιώντας την ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος ICSI. Λόγω των πρόσφατων προόδων στα πρωτόκολλα ορμονικής διέγερσης στις συνθήκες καλλιέργειας, η θεωρία αυτή τείνει να καταρριφθεί. Σε μελέτη με γυναίκες που έπασχαν από σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS), είδαμε ότι η γονιμοποίηση, η ανάπτυξη εμβρύου και η κλινική εγκυμοσύνη δεν θα είχαν σημαντικά στατιστική διαφορά μεταξύ κλασσικής IVF και ICSI. Η έρευνα αυτή παρέχει μεγαλύτερη συνειδητοποίηση της τεχνικής γονιμοποίησης, η οποία δεν χρησιμοποιείται κανονικά για τη θεραπεία με IVM, παρέχοντας μια λιγότερο επεμβατική και παράλληλα πιο αποδοτική προσέγγιση για τον ασθενή. [13,22,23]

- **Ανεξήγητη υπογονιμότητα**

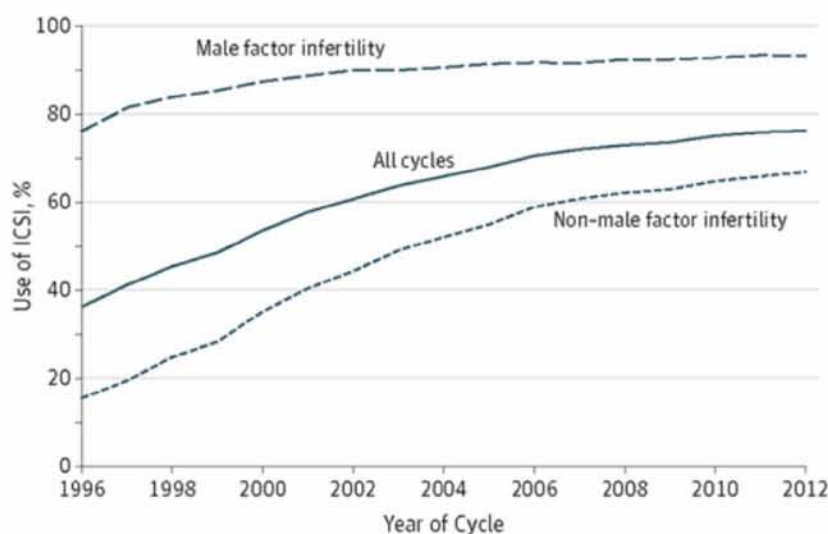
Η μικρογονιμοποίηση ενώ είναι όλο και πιο δημοφιλής, δεν φαίνεται να συνδέεται με καλύτερα αποτελέσματα σε σύγκριση με την κλασσική IVF.

Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι σε περιπτώσεις με ανδρικό παράγοντα υπογονιμότητας τα αποτελέσματα των κύκλων χρησιμοποιώντας ICSI ήταν παρόμοια με τα αποτελέσματα των κύκλων που χρησιμοποιούν συμβατική εξωσωματική γονιμοποίηση. Και όταν ο ανδρικός παράγοντας δεν ήταν ο μοναδικός λόγος της θεραπείας, διαπιστώθηκαν "μικρές αλλά σημαντικές" μειώσεις στην εμφύτευση, την εγκυμοσύνη, τη γέννηση και τις πολύδυμες κυήσεις, σε σύγκριση με τους κύκλους που χρησιμοποιούν συμβατική εξωσωματική γονιμοποίηση που δεν σχετίζονταν με την ανδρική υπογονιμότητα. [18]

Χρησιμοποιώντας δεδομένα σχετικά με τους νέους κύκλους IVF και ICSI που αναφέρθηκαν στο Εθνικό Σύστημα Παρακολούθησης Τεχνολογιών Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής από το 1996 έως το 2012, οι ερευνητές αναγνώρισαν 1.395.634 νέους

κύκλους IVF. Από αυτούς, 65,1% χρησιμοποίησαν ICSI και 35,8% ανέφεραν υπογονιμότητα ανδρικού παράγοντα.

Μεταξύ κύκλων με ανδρική υπογονιμότητα, η χρήση ICSI αυξήθηκε από 76,3% (10.876/14.259) σε 93,3% (32.191/34.506) ($P < .001$) κατά την περίοδο 1996-2012. Για τα άτομα χωρίς υπογονιμότητα ανδρικού παράγοντα, η χρήση ICSI αυξήθηκε από 15,4% (4.197/27.191) σε 66,9% (42.321/63.250) ($P < .001$). Κατά την περίοδο 2008-2012, η υπογονιμότητα του ανδρικού παράγοντα αναφέρθηκε για 35,7% (176.911/494.907) φρέσκων κύκλων. Μεταξύ αυτών των κύκλων, η χρήση ICSI συσχετίστηκε με χαμηλότερο ποσοστό γεννήσεων σε σύγκριση με την κλασσική IVF (30,9% έναντι 34,2%). Μεταξύ των κύκλων χωρίς υπογονιμότητα του ανδρικού παράγοντα ($n = 317\ 996$), η χρήση ICSI συσχετίστηκε με χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης (23,0% έναντι 25,2%) και πολύδυμες κυήσεις. (30.1% έναντι 31.0%) έναντι της κλασσικής εξωσωματικής γονιμοποίησης.



Use of ICSI Among Fresh IVF Cycles With and Without Male Factor Infertility, 1996-2012

ICSI indicates intracytoplasmic sperm injection; IVF, in vitro fertilization.

Διαπιστώθηκε ότι η χρήση της μεθόδου ICSI αυξήθηκε σε απουσία σοβαρού ανδρικού παράγοντα και μπήκε σαν ένδειξη σε περιπτώσεις ανεξήγητης υπογονιμότητας. Η Αμερικανική Εταιρεία Αναπαραγωγική Ιατρική και η Εταιρεία Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγική Τεχνολογία δήλωσαν ότι η χρήση της ICSI με ενδείξεις: ανεξήγητη υπογονιμότητα, πτωχή απαντήτρια και προχωρημένη αναπαραγωγική ηλικία δεν βελτίωσε τα κλινικά αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματά δεν κατέδειξαν βελτίωση στην αναπαραγωγική έκβαση μετά τη γονιμοποίηση με τη χρήση της ICSI σε σύγκριση με τη συμβατική εξωσωματική γονιμοποίηση, σε έλλειψη ανδρικής υπογονιμότητας, ανεξάρτητα από την υποκείμενη ένδειξη για χρήση. Αντίθετα, τα αναπαραγωγικά αποτελέσματα ήταν ελαφρώς φτωχότερα όταν η ICSI χρησιμοποιήθηκε σε περιπτώσεις μη ανδρικών παραγόντων. [22]

- **Χαμηλό ποσοστό γονιμοποίησης**

Η μικρογονιμοποίηση (ICSI) είναι η συνηθέστερη μέθοδος εξωσωματικής γονιμοποίησης μετά την κλασσική εξωσωματική (IVF). Σήμερα, σχεδόν το 90% των κύκλων IVF γίνεται χρησιμοποιώντας την τεχνική ICSI.

Πρέπει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι η κλασσική εξωσωματική γονιμοποίηση είναι σχεδόν εξίσου επιτυχημένη με την ICSI την πρώτη φορά. Στην πραγματικότητα, οι πιθανότητες της εγκυμοσύνης εξαρτώνται από άλλους παράγοντες, ειδικά από την ηλικία και την ποιότητα των ωαρίων, παρά από την τεχνική που χρησιμοποιείται για την γονιμοποίηση του. [17]

Τα ποσοστά εγκυμοσύνης με την ICSI και τα ποσοστά ζωντανών γεννήσεων είναι παρόμοια με αυτά που επιτυγχάνονται με την εξωσωματική γονιμοποίηση IVF. Ωστόσο, μελέτες έχουν δείξει ότι ο σχηματισμός βλαστοκύστεων είναι μειωμένος σε σύγκριση με τους κύκλους IVF, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις κακής κινητικότητας και μορφολογίας του σπέρματος. Η αυθαίρετη επιλογή του σπέρματος (αντί να στηρίζεται στη διαδικασία φυσικής γονιμοποίησης) έχει τη δυνατότητα αυξημένων κινδύνων γενετικά ανώμαλων εμβρύων και γενετικών ανωμαλιών, συμπεριλαμβανομένης της στειρότητας. [25]

Συγκρίνοντας τις δύο τεχνικές με τους σημαντικούς παράγοντες για χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης καταλήγουμε στα παρακάτω συμπεράσματα με βάση μελετών που έχουν δημοσιευτεί.

Για να προσδιορίσουμε την επιτυχία της τεχνικής ICSI, πρέπει να δώσουμε προσοχή σε πολλά ποσοστά, όπως η επίτευξη εγκυμοσύνης και τα ποσοστά ζωντανών γεννήσεων. Σήμερα, το ποσοστό εγκυμοσύνης ανά εμβρυομεταφορά σε κύκλους ICSI είναι περίπου 37%, ενώ το ποσοστό ζωντανών γεννήσεων είναι περίπου 25%.

Εν ολίγοις, σημαίνει ότι ένας στους τέσσερις κύκλους ICSI οδηγεί στην γέννηση ενός υγιούς παιδιού.^[25]

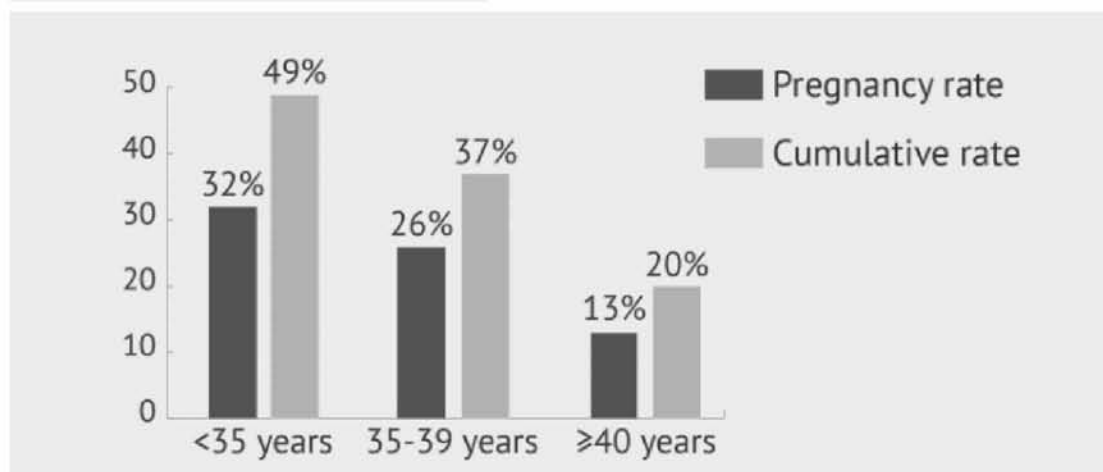
Παράγοντες που επηρεάζουν τις πιθανότητες επιτυχίας:

Η ICSI συνήθως είναι η τεχνική που επιλέγουν εμβρυολόγοι λόγω των πλεονεκτημάτων που έχει σε σχέση με την κλασική εξωσωματική γονιμοποίηση.

Μελετητές όμως έχουν διαφορετική γνώμη των πλεονεκτημάτων της ICSI, καθώς οι συνήθεις μέθοδοι IVF μπορούν να επιτύχουν υψηλότερα ποσοστά επιτυχίας σε γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας, όπως η πιθανότητα ανάπτυξης εμβρύων με μειωμένο αριθμό χρωμοσωμικών ανωμαλιών.^[8]

Όπως αναφερθήκαμε η ηλικία αποτελεί βασικό παράγοντα για τον καθορισμό των ποσοστών επιτυχίας των διαδικασιών της ICSI. Διαχωρίζοντας τα ποσοστά επιτυχίας ανά κύκλο σε τρεις ηλικιακές ομάδες, είδαμε τα εξής αποτελέσματα:^[23,24,25]

Pregnancy success rates by age with ICSI



Γυναίκες ηλικίας <35 ετών:

Τα ποσοστά επιτυχίας του ICSI για πρώτη φορά μπορούν να φθάσουν έως και 32% και μπορούν να αυξηθούν έως και 49% σε επόμενους κύκλους.

Γυναίκες ηλικίας 35-39 ετών:

Το ποσοστό εγκυμοσύνης μειώνεται στο 26% κατά την πρώτη προσπάθεια και ο σωρευτικός ρυθμός μπορεί να φτάσει έως και 37%.

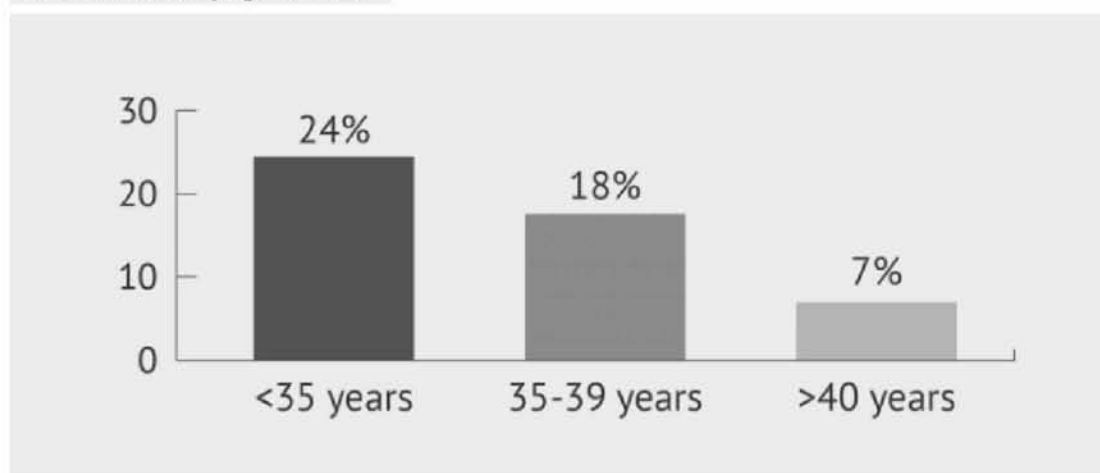
Γυναίκες ηλικίας ≥40 ετών:

Το ποσοστό επιτυχίας της εγκυμοσύνης είναι σχεδόν 23% την πρώτη φορά, με σύνολο 20% σε επόμενους κύκλους FET (Frozen Embryo Transfer).

Τα ποσοστά ζωντανών γεννήσεων, όπως μπορεί κανείς να δει παρακάτω συγκρίνοντας και τα δύο γραφήματα, είναι χαμηλότερα σε σύγκριση με τα ποσοστά

επιτυχίας της εγκυμοσύνης. Δυστυχώς, ένα ποσοστό κύκλων ICSI καταλήγει σε αποβολή.

Live birth rates by age with ICSI



Συχνά, η Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (PGD) υπονομεύει την ανάπτυξη εμβρύου, η οποία μεταφράζεται σε χαμηλότερα ποσοστά επιτυχίας. Σε αυτές τις περιπτώσεις, το ποσοστό ζωντανών γεννήσεων της ICSI με PGD είναι περίπου 14% σε σχέση με την IVF οπότε είναι η προτιμώμενη μέθοδος σε αυτές τις περιπτώσεις.

- **Κόστος της κάθε τεχνικής**

Τα γενικότερα στοιχεία για την αποτελεσματικότητα των δύο πιο δημοφιλών μεθόδων τεχνητής γονιμοποίησης είναι σχεδόν παρεμφερή. Η IVF όμως κρίνεται πιο οικονομικά συμφέρουσα για την ασθενή. Το μέσο κόστος της ορμονικής διέγερσης IVF ήταν 1.630 ευρώ και της ICSI ήταν 1.585 ευρώ. Το κόστος της ωοληψίας υπολογίστηκε στα 500 ευρώ και 725 ευρώ αντίστοιχα. Η εμβρυομεταφορά υπολογίστηκε ότι ήταν 185 ευρώ. Οι δαπάνες ανά κύκλο IVF και ICSI κοστολογήθηκαν ότι είναι 2.381 ευρώ και 2.578 ευρώ αντίστοιχα.^[3]

Η ορμονική διέγερση κάλυψε το κύριο μέρος του κόστους ανά κύκλο (κατά μέσο όρο 68% και 61% για την IVF και την ICSI, αντίστοιχα) λόγω του σχετικά υψηλού κόστους των φαρμάκων. Το κόστος της φαρμακευτικής αγωγής αυξάνεται όσο μεγαλώνει και η ηλικία της γυναίκας, ανεξάρτητα από τον τύπο της θεραπείας (IVF ή ICSI). Τα έξοδα γονιμοποίησης στο κλινικό εργαστήριο IVF αποτελούσαν το 12% και το 20% των δαπανών του συνολικού κόστους της εξωσωματικής γονιμοποίησης και της ICSI αντίστοιχα. Το τελικό κόστος ανά κύκλο ICSI ήταν 8,3% υψηλότερο

από την κλασσική εξωσωματική γονιμοποίηση. Σύμφωνα με όλα αυτά τα στοιχεία η ICSI είναι πιο ακριβή μέθοδος. ^[3]

Σύνοψη

- Η ICSI δεν έχει καλύτερα αποτελέσματα από την κλασσική IVF.
- Υπάρχουν συγκεκριμένες ενδείξεις για διενέργεια ICSI.
- Το κόστος είναι ένας σημαντικός παράγοντας να λάβουμε υπόψη μας.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. George Anifandis, Christina Messini, Konstantinos Dafopoulos, Sotiris Sotiriou, Ioannis Messinis: «Molecular and Cellular Mechanisms of Sperm-Oocyte Interactions Opinions Relative to in Vitro Fertilization (IVF) », Int. J. Mol. Sci. 2014
2. Η έκκριση της LH κατά την πολλαπλή ωοθυλακική ωρίμανση, Ι.Ε. Μεσσήνης, Ελληνική Μαιευτική και Γυναικολογία. 18(4):266-271,2006
3. A detailed cost analysis of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection treatment. Bouwmans CA1, Lintsen BM, Eijkemans MJ, Habbema JD, Braat DD, Hakkaart L.
4. <https://www.e-nomothesia.gr>
5. Fishel S., Green S., Bishop M., Thornton S., Hunter A. et al., "Injection of spermatid [letter]", Lancet 345 [8965] (1995), 1641-1642.
6. Palermo G., Joris H., Devroey P. and Van Steirteghem A.C., "Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte", Lancet 340(1992), 17-18.
7. Patrizio P., Ord T., Balmaceda JP. and Asch R.H., "Use of epididymal sperm for assisted reproduction in men with acquired, irreparable obstructive azoospermia", Reprod. Fertil. Dev. 7(1995), 841-845.
8. Van Steirteghem A.C., Liu J., Joris H., Nagy Z., Janssenswillen C. et al., "Higher success rate by intracytoplasmic sperm injection than by subzonal

- insemination. Report of a second series of 300 consecutive treatment cycles", Hum. Reprod. 8(1993), 1055-1060.
9. Van Steirteghem A.C., Nagy Z., Joris H., Liu J., Staessen C. et al., "High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection", Hum. Reprod. 8(1993), 1061-1066.
 10. Van Steirteghem A., Nagy Z., Liu J., Joris H., Verheyen G. et al., "Intracytoplasmic sperm injection", Baillieres. Clin. Obstet. Gynaecol. 8(1994), 85-93
 11. Good Clinical Treatment in Assisted Reproduction - An ESHRE position paper. 2008
 12. The Practice Committees for ASRM and SART. FertilSteril 2012
 13. The ESHRE Capri Workshop Group. Hum Reprod Update 2007
 14. Total fertilization failure: is it the end of the story? Inci Kahyaoglu, Berfu Demir, corresponding author Ayten Turkkanı, Ozgu Cınar, Serdar Dilbaz, Berna Dilbaz, and Leyla Mollamahmutoglu
 15. The role of intracytoplasmic sperm injection in non-male factor infertility in advanced maternal age Samer Tannus Weon-Young Son Ashley Gilman Grace Younes Tal Shavit Michael-Haim Dahan
 16. Human Reproduction, Volume 32, Issue 1, 1 January 2017, Pages 119–124, <https://doi.org/10.1093/humrep/dew298>
 17. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Effectiveness and treatment for unexplained infertility. FertilSteril 2006;86:S111-4.

18. Bungtegy um L, Bugnum M, Humaidan P, Yding Anderson C. A strategy for treatment of couples with unexplained infertility who failed to conceive after in-trauterine insemination. *Reprod Biomed Online* 2004;8:584-9
19. Methodology matters: IVF versus ICSI and embryonic gene expression
Phillip J. Bridges, a Myoungkun Jeoung,a Heyoung Kim,a Jung Ho Kim,b Dong Ryul Lee,b Che Myong Ko,a,c and Doris J. Bakera,c
20. Argyle et al., Hum Reprod Update 2016 ASRM. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *FertilSteril* 2013
21. Plachot M, Belaisch-Allart J, Mayenga JM, Chouraqui A, Tesquier L, Serkine AM. Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in mild male factor infertility. *Hum Reprod* 2002;17:362-9
22. Comparison of conventional IVF versus ICSI in non-male factor, normoresponder patients. Maryam Eftekhari, M.D.,¹ Farnaz Mohammadian, M.D.,² Fariba Yousefnejad, M.D.,¹ Behnaz Molaei, M.D.,² and Abbas Aflatoonian, M.D.¹
23. IVF versus ICSI for the fertilization of in-vitro matured human oocytes.
Walls M1, Junk S, Ryan JP, Hart R.
24. Cryopreservation of supernumerary oocytes in IVF/ICSI cycles
P.E. Levi Setti E. Albani P.V. Novara A. Cesana G. Morreale
25. Human Reproduction, Volume 21, Issue 2, 1 February 2006, Pages 370–375,
<https://doi.org/10.1093/humrep/dei347>
26. *Methods Mol Biol.* 2014;1154:541-8. doi: 10.1007/978-1-4939-0659-8_25.
Embryo transfer Brauer AA1, Schattman G.
27. <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/in-vitro-fertilization/about/pac-20384716>

28. <https://www.drmlpani.com/knowledge-center/articles/vitrification-technique-vs-slow-freezing-embryos>
29. Physical and mental development of children after in vitro fertilization and embryo transfer First published: 20 May 2004
30. Long-term follow-up of children conceived through assisted reproductive technology* Yue-hong Lu,^{1,2} Ning Wang,¹ and Fan Jin^{†‡,1}